



MINISTERIE VAN ECONOMISCHE ZAKEN

UITVINDINGSOCTROOI

PUBLICATIENUMMER : 1005825A4

INDIENINGSNUMMER : 09200478

Internat. klassif. : C07H B01F C11D

Datum van verlening : 08 Februari 1994

De Minister van Economische Zaken,

Gelet op de wet van 28 Maart 1984 op de uitvindingsoctrooien
inzonderheid artikel 22;

Gelet op het Koninklijk Besluit van 2 December 1986, betreffende het aanvragen,
verlenen en in stand houden van uitvindingsoctrooien, inzonderheid artikel 28;

Gelet op het proces-verbaal opgesteld door de Dienst voor Industriële Eigendom op
22 Mei 1992 te 14u00

BESLUIT :

ARTIKEL 1.- Er wordt toegekend aan : PILJAC Goran; PILJAC Visnja
Centar za biomedicinska istrazivanja, 41000 ZAGREB, SALATA 2,
CROATIA (JOEGOSLAVIE); Centar za biomedicinska istrazivanja, 41000 ZAGREB, SALATA 2,
CROATIA (JOEGOSLAVIE)

vertegenwoordigd door : PRINS Hendrik, OCTROOIBUREAU ARNOLD & SIEDSMA B.V.B.A.,
Hamoirilaan, 21a - B 1180 BRUSSEL.

een uitvindingsoctrooi voor de duur van 20 jaar, onder voorbehoud van de betaling van
de jaartaksen voor : OPPERVLAKTEACTIEVE SAMENSTELLING OP BASIS VAN RHAMNOLOPIDE.

ARTIKEL 2.- Dit octrooi is toegekend zonder voorafgaand onderzoek van zijn
octrooieerbaarheid, zonder waarborg voor zijn waarde of van de juistheid van
de beschrijving der uitvinding en op eigen risico van de aanvrager(s).

Brussel, 08 Februari 1994
BIJ SPECIALE MACHTIGING :

WILHELM
GROENEN

Oppervlakteactieve samenstelling op basis van rhamnolipide

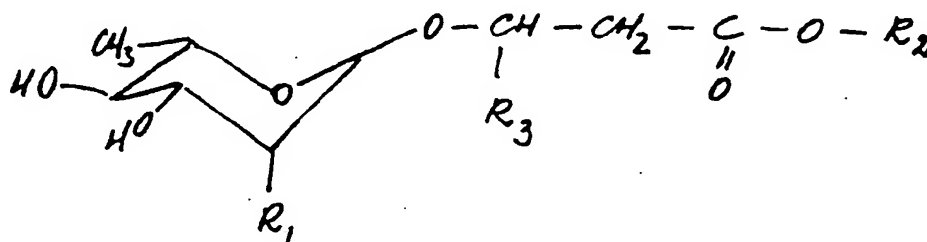
De onderhavige uitvinding heeft betrekking op een oppervlakteactieve samenstelling bevattende als oppervlakteactieve stof tenminste één rhamnolipide. In het bijzonder heeft de onderhavige uitvinding betrekking op een dergelijke op een rhamnolipide gebaseerde samenstelling voor het gebruik bij het winnen en behandelen van metalen; papierproductie; bereiding van verf en coating; olieproductie en -raffinage; het reinigen, verven, bedrukken en eindbewerken van textiel; de fabricage van bouw- en constructiemateriaal; plastics; levensmiddelen en dranken; en in leerbehandeling.

Door de verschillende combinaties van koolhydraten en lipiden, tezamen met structureel verschillende bindingen en verschillende ionische toestanden, bestaan er een groot aantal glycolipiden met een onderling sterk verschillende hydrofiele-lipofiele balans. Het is bekend dat verschillende stammen van *Pseudomonas*, zoals *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas oleovorans*, in staat zijn om rhamnolipiden extracellulair uit te scheiden, wanneer zij worden gekweekt op oplosbare, alsook op onoplosbare koolstofoppervlakken.

De onderhavige uitvinding heeft betrekking op oppervlakteactieve samenstellingen die deze rhamnolipiden bevatten. Op basis van een uitgebreid onderzoek is gevonden dat deze op rhamnolipiden gebaseerde samenstellingen een uitstekende oppervlakteactieve werking vertonen in polaire en apolaire media. Deze uitstekende oppervlakte-werking is in hoge mate temperatuur onafhankelijk, dat wil zeggen dat deze samenstellingen volgens de onderhavige uitvinding in wezen warmtestabiel zijn. Bovendien zijn de gebruikte

rhamnolipiden natuurlijke verbindingen en biologisch afbreekbaar. Het gebruik ervan zal niet een onomkeerbare milieuvervuiling tot gevolg hebben.

Bij voorkeur is het rhamnolipide een rhamnolipide met de algemene formule



Zeer werkzame rhamnolipiden worden verkregen indien het rhamnolipide een di-rhamnolipide is.

Indien de substituent R_2 waterstof is, bevat het rhamnolipide slechts één lipidegroep. Indien de substituent R_2 wordt gevormd door $\text{CH} - \text{CH}_2 - \text{COOH}$,
 R_4

bevat het rhamnolipide-molecuul twee lipide-eenheden die onderling verbonden zijn door een esterbinding.

De substituënten R_3 en R_4 kunnen worden gekozen uit rechte of vertakte (C_5 - C_{20})-verzadigde, -mono- of poly-onverzadigde alkylgroepen. Voorkeur gaat uit naar onvertakte, verzadigde alkylgroepen met de algemene formule $(\text{CH}_2)_x - \text{CH}_3$, waarin $x = 4-20$. Meer voorkeur gaat uit naar alkylgroepen waarin $x = 4$ of 6 .

Een zeer werkzaam farmaceutisch preparaat wordt verkregen indien dit bevat het rhamnolipide (alfa-L-rhamnopyranosyl-(1,2) alfa-L-rhamnopyranosyl)-3-hydroxydecanooyl-3-hydroxydecaanzuur.

Aan de hand van een niet-limitatief voorbeeld zullen hierna van een rhamnolipide de isolatie en het gebruik in oppervlakteactieve samenstellingen volgens de uitvinding worden beschreven. Hierbij is van de volgende methoden gebruik gemaakt.

1. Isolatie en karakterisering

Uit boorvloeistof van een olieput werden bacteriestammen geïsoleerd die rhamnolipiden kunnen
5 synthetiseren op zowel een vloeibare koolstofbron (glucose) als op een onoplosbare koolstofbron (glycerol, gasolie). Deze geïsoleerde bacteriestammen zijn gekarakteriseerd als Pseudomonasstammen (BBL Minitek, Numerical Determination and Identification System,
10 Becton, Dickinson and Company.)

2. Concentratie en zuivering

De door extracellulaire secretie in het medium
15 aanwezige rhamnolipiden werden op verschillende wijzen geconcentreerd en gezuiverd.

a) zuur precipitatie

De pH van de supernatant werd met behulp van
20 zoutzuur gebracht op een pH 1,5-2,0, waarna werd ingedampt tot 1/10 van het oorspronkelijke volume en het concentraat liet men over de nacht bij 4°C staan. De afgecentrifugeerde pellet (0,5-2,0 g/l) werd gecentrifugeerd bij 17.300 x g gedurende 30 minuten bij
25 4°C en vervolgens geëxtraheerd met CH₂Cl₂, gefiltreerd, drooggedampt, opnieuw gesuspenderd in water en vervolgens opnieuw geprecipiteerd.

b) schuimfractionering

30 Samengeperste lucht werd gebracht tot in de supernatant en gevormd schuim werd opgenomen in een afzonderlijke houder, of gebracht in aangezuurd water (pH 1,5-2,0).

c) chromatografie

35 Supernatant werd gebracht op een preparatieve kolom (Amberlit XAD-8 of XAD-2 hars, Rohm & Haas). De kolom was geëquilibreerd met water en werd na absorptie doorspoeld

met water. De actieve componenten werden geëluëerd met een lagere alkylalcohol, zoals ethanol of methanol. Het gebruikte

oplosmiddel werd afgedampt onder vacuüm en het concentraat werd aangezuurd en geprecipiteerd zoals hiervoor is beschreven.

3. Chemische detectie en karakterisering.

10

Dunne-laag-chromatografie werd analytisch uitgevoerd met silica gel 60F 254 platen (Merck) en preparatief uitgevoerd met Kemika-platen. Voor een optimale scheiding kunnen de navolgende

15 oplosmiddelmengsels worden gebruikt:

CHCl_3 -MeOH-azijnzuur-water (25:15:4:2; 12:15:4:2; 25:25:4:2)

CHCl_3 -MeOH-azijnzuur (80:15:5)

Hexaan-isopropylether-azijnzuur (15:10:1)

20 CHCl_3 -MeOH- NH_4OH (25%)-water (65:25:4:2)

propanol- NH_4OH (25%) (4:1).

VOORBEELD

25

Pseudomonas aeruginosa werd aeroob gekweekt bij een temperatuur van 32°C. De volgende kweekmedia bleken zeer geschikt voor de rhamnolipide-produktie.

30 a) 5 g glucose, 5 g pepton, 2 g gistextract, 5 g NaCl, 0,5 g KH_2PO_4 , 2 g $\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 3 g KNO_3 , 1 ml Gottlieb oplossing en 1 liter water.

b) 20 g glucose, 10 g gistextract, 20 g CaCO_3 en 1 liter water.

35 Glucose kan worden vervangen door glycerol, waardoor een twee-fasensysteem ontstaat. Glycerol als koolstofbron levert een betere opbrengst in vergelijking tot glucose, maar een meer gecompliceerd proces is vereist. De verandering van de oppervlaktespanning van het kweekmedium naar 28-31 mN/m werd gemeten met behulp

van een White's ring tensiometer. Deze verlaging van de oppervlaktespanning is een goede maat voor de opbrengst aan het einde van de fermentatie. De rhamnolipideconcentratie werd spectrofotometrisch gemeten met antron-reagens. Nadat de biomassa was afgescheiden door centrifugeren, werd de supernatant gechromatografeerd op silica gel 60 F 254 platen en op Kemika platen.

Glycolipiden konden worden aangetoond door gebruik te maken van de navolgende reagentia, voor lipiden α -naphthol, voor glycolipiden diphenylamine, en voor koolhydraten en oligosacchariden beta-naphthol-timol en anthron. Gebruikmaking van deze reagentia leverde op, dat de verbindingen van het glycolipide-type zijn. Met alphacyclodextrine, reagens en kleurstof voor vetzuren, kon worden aangetoond dat het lipofiele/hydrofobe deel van het molecuul bestaat uit vetzuurketens met een even aantal koolstofatomen. Negatieve resultaten werden verkregen met reagentia voor onverzadigde lipiden. Met behulp van alkali KMnO_4 en ammoniacaal AgNO_3 kon de aanwezigheid van glycosidische bindingen worden aangetoond. Door alkalische hydrolyse werden esterbindingen tussen aanwezige vetzuren gesplitst, en door zure hydrolyse werd de O-glycosidische binding tussen de suikergroep en de OH-groep van het lipide-deel van het molecuul gesplitst.

10 volumina van de supernatant die de rhamnolipiden bevat, werden geleid over een amberlit XAD-8 of XAD-2 kolom (Rohm & Haas). De kolom werd gewassen met water. De rhamnolipiden werden geëlueerd met 100% MeOH. De fracties die de rhamnolipiden bevatten werden drooggedampt en daarna opgenomen in dezelfde hoeveelheid zuiver water. 1 N HCl werd toegevoegd om de rhamnolipiden neer te slaan. De neergeslagen rhamnolipiden werden gecentrifugeerd bij 3.000 toeren per minuut gedurende 10 minuten. De neergeslagen rhamnolipiden werden opnieuw gewassen met zuiver water en vervolgens gecentrifugeerd bij 3.000 toeren per minuut gedurende 10 minuten. Met behulp van

1/10 N NaOH werd de pH van de neergeslagen lipiden ingesteld op 7,2. Na vriesdrogen werd 10 g van het gevriesdroogde preparaat opgelost in 50 ml propanol en gebracht op een silica-kolom (Waters HPLC, volume 500 ml) die was geëquilibreerd met hexaan. Met behulp van 5 liter propanol werden verontreinigingen geëluëerd. De rhamnolipiden werden geëluëerd onder gebruikmaking van het oplosmiddelmengsel propanol-25% NH₄OH (4:1). De actieve fracties werden drooggedampt en opgelost in water, neergeslagen met 1 N HCL, gecentrifugeerd bij 3.000 toeren per minuut, en de neerslagen werden met behulp van 0,1 N NaOH ingesteld op pH 7,2 en gevriesdroogd.

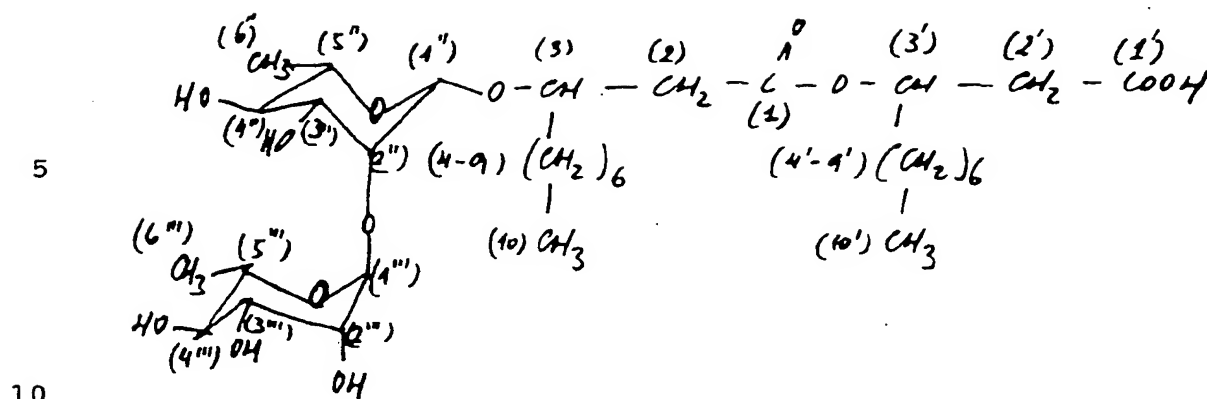
De verkregen, zuivere rhamnolipiden werden gebruikt voor het bereiden van de bio-oppervlakteactieve samenstellingen volgens de uitvinding. Deze samenstellingen kunnen bestaan uit polaire en apolaire oplossingen, dispersies, emulsies, suspensies en mengsels daarvan.

Afhankelijk van de uiteindelijke toepassing bevatten de bio-oppervlakteactieve samenstellingen vanaf 0,05 tot 10 gew.% actief rhamnolipide. Bij voorkeur echter is de rhamnolipide-concentratie vanaf 0,1 tot 2,0 gew.%, meer bij voorkeur vanaf 0,1 tot 1,0 gew.%. De ondergrens wordt bepaald door de activiteit van het aanwezige rhamnolipide en de bovengrens voornamelijk door kostenoverwegingen.

Formuleringsvoorbeeld

Waterige oplossingen werden bereid met 0,00001 tot 1,0 gew.% rhamnolipide. Het rhamnolipide was (alfa-L-rhamnopyranosyl-(1,2) alfa-L-rhamnopyranosyl)-3-hydroxydecoanoyl-3-hydroxydecaanzuur, en was geïdentificeerd met

- i) ¹H- en ¹³C-NMR gegevens; en
- ii) massaspectrofotometriegegevens.



$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz; DMSO- d_6)

	<u>C</u>	<u>ppm</u>	<u>C</u>	<u>ppm</u>	<u>C</u>	<u>ppm</u>
15	1''	97,7	1	173,3	1'	170,6
	2''	77,3	2	40,8	2'	40,2
	3''	70,4°	3	72,2°	3'	71,4°
	4''	73,2	4	33,7	4'	32,5
	5''	68,9	5	24,8	5'	24,1
20	6''	17,9	6	28,8-29,2	6'	28,8-29,2
	1'''	102,2	7		7'	
	2'''	70,4°	8	31,4	8'	31,4
	3'''	70,8°	9	22,2	9'	22,2
	4'''	72,4	10	14,0	10'	14,0
25	5'''	68,8				
	6'''	17,8				

°: toerekeningen kunnen omgekeerd zijn

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆)**suiker-deel**

5	H	ppm	
	1" ; 1'"	4,8; 4,9	singlet (24)
	2" ; 2'"		
		3,20 --> 4,10	multiplet (8H)
	5" ; 5'"		
10	6" ; 6'"	1,21	doublet, J=5,9 Hz (6H)

lipide-deel

	H	ppm	
	2,2'	2,43, 2,53	2x doublet, J=6,0 Hz (4H)
15	3,3'	3,20 - 4,1	multiplet (2H)
		5,24	
	4,4'	1,6	multiplet (4H)
	5,5' -> 9,9'	1,3	multiplet (16H)
	10,10'	0,97	triplet, J=6,3 Hz (6H)

20

massaspectrum

	m/z : 673 [M + H + Na] ⁺
	m/z : 695 [M + H + 2Na] ⁺
25	m/z : 525 [M - C ₁₀ H ₁₈ O ₂ + 2Na] ⁺ minus terminaal lipide
	m/z : 379 [m - C ₁₀ H ₁₈ O ₂ - rhamnose + 2Na] ⁺ minus terminaal lipide en rhamnose

30 Bij het winnen van metalen kunnen deze samenstellingen op basis van rhamnolipide worden gebruikt voor het concentreren van erts. In de bewerking en behandeling van metaal kunnen deze samenstellingen worden gebruikt voor het snijden en vormen, gieten, verwijderen van roest en aanslag, en bij het plateren.

35 In de papierproductie kunnen deze samenstellingen overeenkomstig de uitvinding worden gebruikt voor behandeling van pulp, in papiermachines voor het ontschuimen, bij het instellen van het kleurniveau en de

dispersie, en tijdens het kalanderen.

In verf- en coatingbereiding kunnen de rhamnolipiden worden gebruikt bij de bereiding van pigmenten en in latex-verven en verder in wassen.

5 Bij de produktie en raffinage van olie kunnen deze oppervlakteactieve stoffen worden gebruikt in boorvloeistoffen, tijdens het overlopen van producerende bronnen, gedurende de olieproduktie door deëmulsiëring van de ruwe olie, bij het herwinnen van secundaire olie
10 en tenslotte in gerede produkten.

Met betrekking tot textiel kunnen deze rhamnolipiden worden gebruikt bij de fabricage van vezels, in verf- en drukprocessen en verder bij de eindbewerking van textiel.

15 In de landbouw kunnen deze bio-oppervlakteactieve rhamnolipiden worden gebruikt in kunstmeststoffen, zoals fosfaat-kunstmest, en in sproeitoepassingen voor biociden, zoals pesticiden en herbiciden.

In bouw- en constructiematerialen kunnen deze
20 rhamnolipiden worden gebruikt voor plaveisels, zoals bij de verbetering van de bindende kracht van asfalt aan gravel en zand, en in beton.

Voor plastics kunnen deze bio-oppervlakteactieve stoffen worden gebruikt in emulsiëpolymerisatie, in
25 schuimplastic, in plastic voorwerpen als anti-statische stoffen en in plastic-coating en laminaat.

Voor voedingsmiddelen en dranken kunnen deze oppervlakteactieve stoffen worden gebruikt bij de voedselbereiding, voor fruit en groenten, zoals
30 bijvoorbeeld wascoatings, in gebak en ijs, bij de kristallisatie van suiker door het wassen te verbeteren, en bij het koken van vetten en oliën.

Voor reiniging kunnen deze rhamnolipiden worden gebruikt in detergentia en sanitaire samenstellingen.

35 Tenslotte kunnen de rhamnolipiden worden gebruikt in de leerbehandeling voor het behandelen van huid, voor het looien, voor de behandeling van vellen en voor het drogen van leer.

Proefvoorbeeld 1

De overeenkomstig het voorbeeld bereide rhamnolipiden werden opgelost in een concentratie 500
5 mg/10 liter water en gebruikt in een wasmachine voor het wassen van kleding met vetvlekken. Gedurende het wassen werd geen excessieve schuimvorming waargenomen, en de vetvlekken werden verwijderd.

10 Proefvoorbeeld 2

Een waterige oplossing van het rhamnolipide volgens het voorbeeld van 1:10.000 werd gebracht (5 ml) op een preparatieve HPLC kolom voor de verwijdering van organische materialen. Na elueren was het door
15 standaardprocedures niet te verwijderen organische materiaal verdwenen.

Proefvoorbeeld 3

Een met olie verontreinigd oppervlak werd gespreoid
20 met een 0,5% kleine w/v oplossing van het rhamnolipide volgens de uitvinding. De geëmulificeerde olie werd van het oppervlak gespoeld met water.

25 Proefvoorbeeld 4

Om te onderzoeken of de bio-oppervlakteactieve stoffen volgens de uitvinding in staat zijn met olie verontreinigd zand, rotssteen en water zoals zeewater te reinigen werd de oppervlaktespanning van 0,01 en 0,05
30 gewichtsprocentige oppervlakteactieve oplossingen van synthetisch pekkel (15 g natriumchloride per m^2 + 200 pbm CH_2 +) gemeten.

Bovendien werd de interfaciale spanning gemeten van deze bio-oppervlakteactieve oplossingen tegen kerosine D2
35 olie, een commercieel verkrijgbaar koolwaterstof mengsel. Bovendien werden deze metingen ook uitgevoerd na de bio-oppervlakteactieve oplossingen aan een warmtebehandeling bij 120°C te hebben onderworpen.

Een 0,01 gewichtsprocent oplossing in pekkel reduceert de interfaciale spanning tegen kerosine (D2 olie) van 33,5 mN/m tot een waarde van 0,22 mN/m. De warmtebehandeling had geen effect op de verkregen
5 resultaten.

Rhamnolipide oppervlakteactieve stoffen zijn in staat de interfaciale spanning van het systeem pekkel/olie te reduceren van 33,5 mN/m tot 0,5-0,2 mN/m (8,5 tot reductie). Bij de lage concentratie van 0,01
10 gewichtsprocent/vol in pekkel wordt de oppervlaktetenspanning teruggebracht van aanvankelijk 71,0 mN/m tot 28-30 mN/m (ongeveer 60%).

Proefvoorbeeld 5

15 De resultaten van de laboratoriumproef voor verbeterde olieherwinning tonen de efficiency aan van de rhamnolipide-oplossing in de secundaire fase van het terugwinnen van olie, bij de zogeheten gemodificeerde waterstroom, die een verplaatsing van de oliebron omvat.

20 Additionele olie die werd teruggewonnen in relatie tot de waterstroom is 10-26% van de oorspronkelijke middelen, of 25-54% van de residu-verzadiging met opname van 2-3 P.V. (porievolume) van de rhamnolipide oplossing (0,01 mg/ml).

25 Aan de verplaatsingscondities is voldaan, zoals getoond in de diagrammen 1 en 2, door

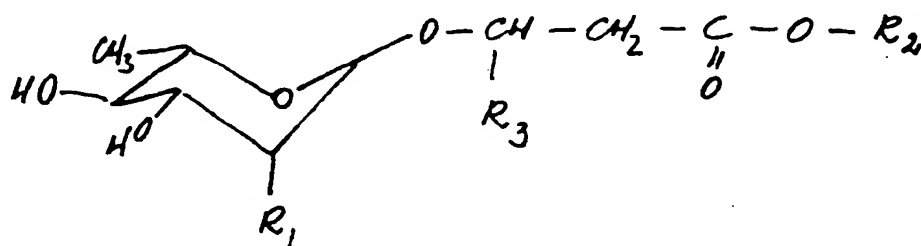
- regulering van de mobiliteit van de geïnjecteerde oplossing tot 0,1 m/dag; en
- een tijdelijke afsluiting van de produktie zodat het

30 "stromen" van de bron kan worden gerealiseerd. In praktische situaties betekent dit een 6 maal langer durende produktiecyclus in vergelijking met de waterstroom zelf.

CONCLUSIES

1. Oppervlakteactieve samenstelling bevattende als oppervlakteactieve stof tenminste één rhamnolipide.

2. Samenstelling volgens conclusie 1, bevattende een rhamnolipide met de algemene formule:



waarin $R_1 = \text{H}$, alfa-L-rhamnopyranosyl;

$R_2 = \text{H}$, - CH - CH₂ - COOH;

R_4

$R_3 = (\text{C}_5\text{-C}_{20})$ -verzadigd, -mono- of poly-onverzadigd alkyl;

$R_4 = (\text{C}_5\text{-C}_{20})$ -verzadigd, -mono- of poly-onverzadigd alkyl;

3. Samenstelling volgens conclusie 2, waarin

$R_3 = -(\text{CH}_2)_x - \text{CH}_3$, en $x = 4\text{-}20$.

4. Samenstelling volgens conclusie 3, waarin $x = 4$

of 6.

5. Samenstelling volgens conclusie 2-4, waarin

$R_4 = -(\text{CH}_2)_x - \text{CH}_3$, en $x = 5\text{-}20$.

6. Samenstelling volgens conclusie 5, waarin $x = 4$

of 6.

7. Samenstelling volgens conclusie 2-6, waarin

$R_1 = \text{alfa-L-rhamnopyranosyl}$.

8. Samenstelling volgens conclusie 2-7, waarin x =
6.

9. Samenstelling volgens conclusie 2-8, waarin
5 $R_2 = -CH - CH_2 - COOH;$

$(CH_2)_y$

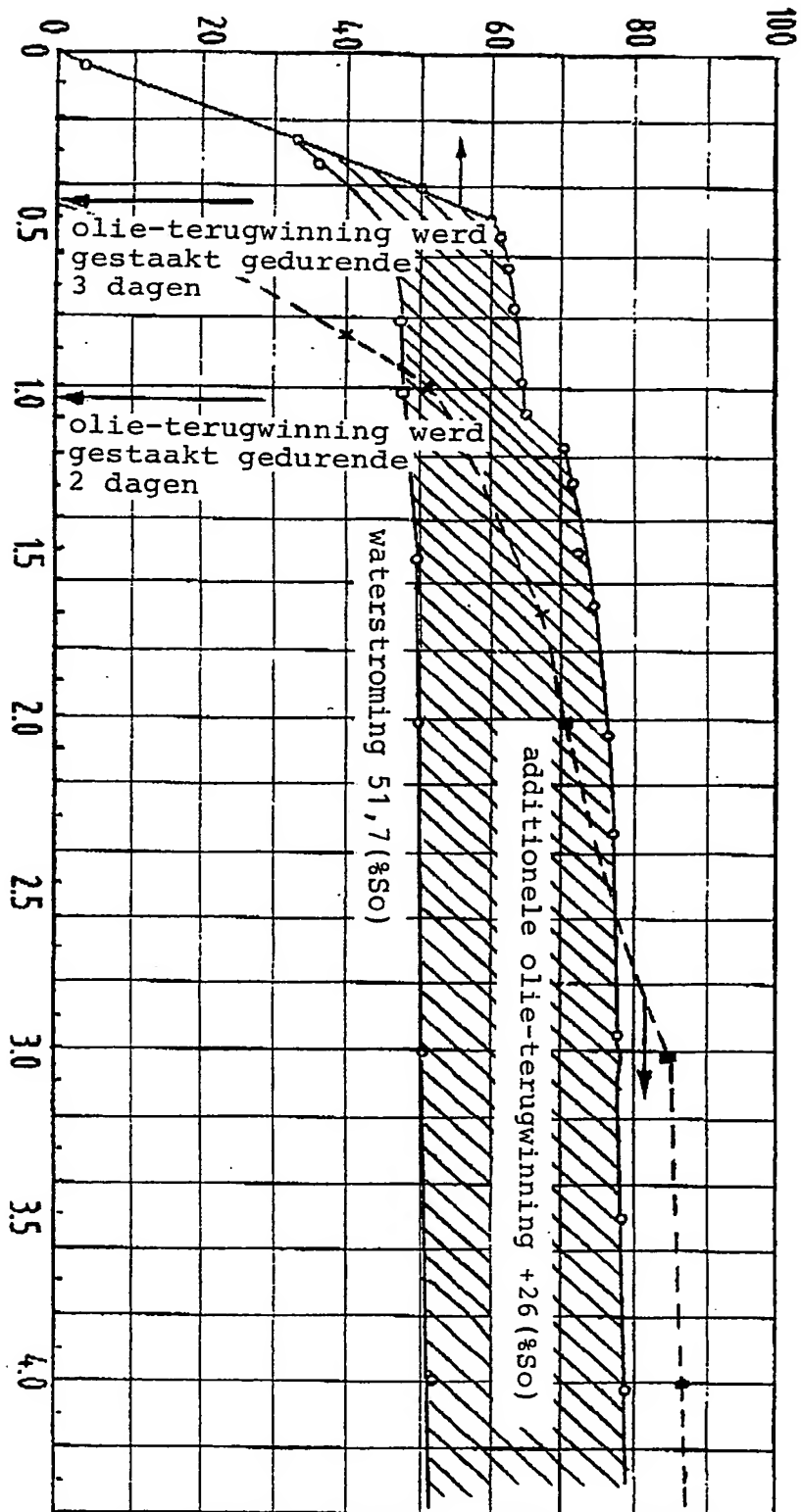
CH_3

en y = 4-20.

10 10. Samenstelling volgens conclusie 9, waarin y = 4
of 6.

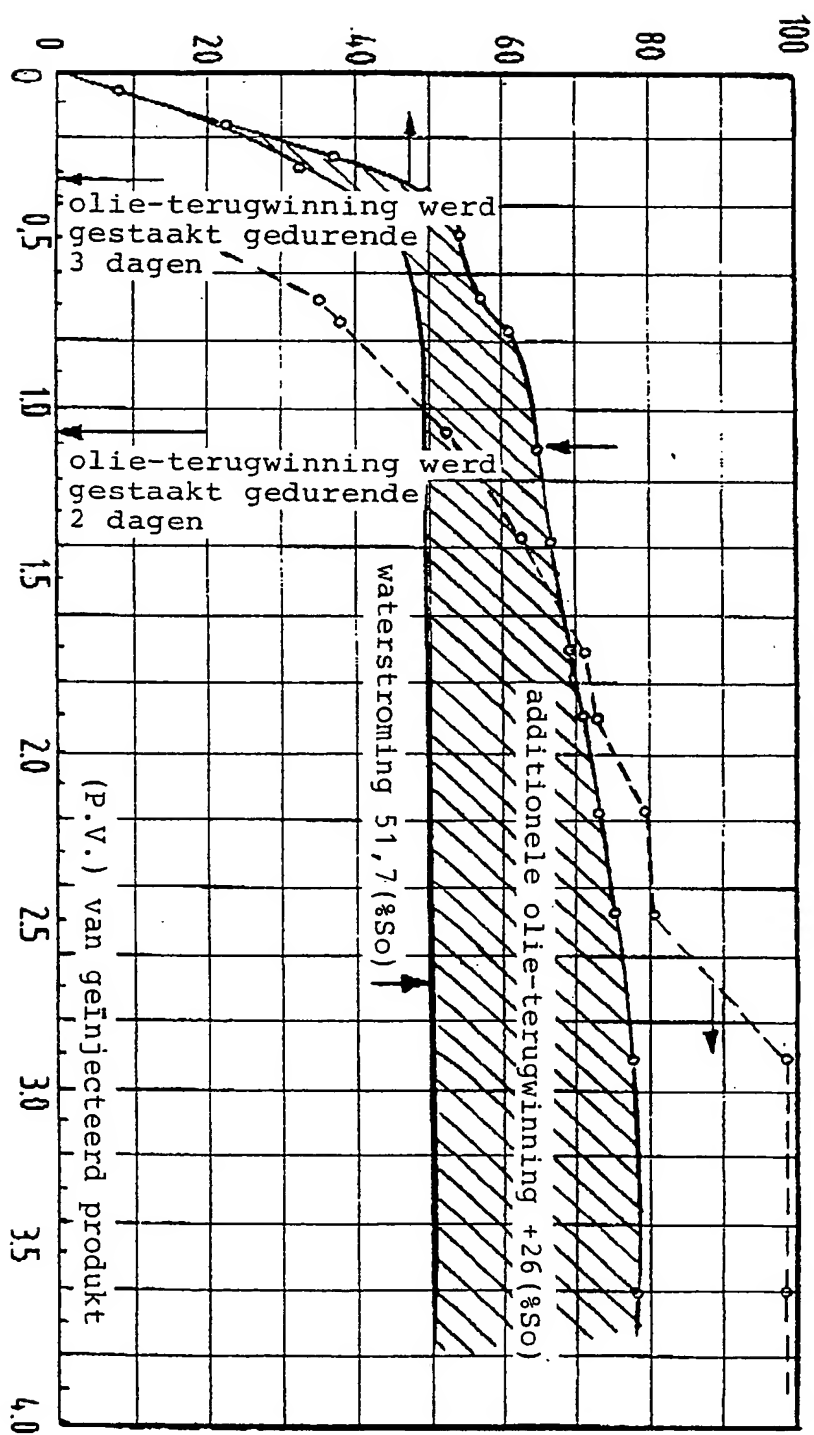
11. Samenstelling volgens conclusie 1-10, waarin
het rhamnolipide is (alfa-L-rhamnopyranosyl-(1,2) alfa-L-
15 rhamnopyranosyl)-3-hydroxydecoanoyl-3-hydroxydecaanzuur.

Diagram 1: laboratoriumsimulatie van het terugwinnen van olie
 oliebron karakteristieken $K = 49 \text{ m}^2$, $\phi = 21,0\%$
 secundair proces injecteren van produkt in oplossing
 (10 vol.% in pekkel water)



waterverhouding in produktie (vol.%)

teruggewonnen olie



waterverhouding in produktie (vol.%)

Diagram 2: laboratoriumsolutie van het terugwinnen van olie
 oliebron karakteristieken $K = 8,8 \text{ m}^2$, $\phi = 13,8\%$
 secundair proces injecteren van produkt in oplossing

SAMENWERKINGSVERDRAG INZAKE OCTROOIEN

Verslag betreffende het onderzoek van het internationale type
opgesteld krachtens artikel 21 § 9 van de Belgische wet op de
uitvindingsoctrooien van 28 maart 1984

IDENTIFIKATIE VAN DE NATIONALE AANVRAGE		KENMERK VAN DE AANVRAGER OF GEMACHTIGDE <p align="center">P HP/sm/Pj-2BE</p>	
Belgische nationale aanvraag nr. <p align="center">9200478</p>		Datum van indiening <p align="center">22 mei 1992</p>	
		Ingeroepen voorrangsdatum	
Aanvrager (Naam) <p align="center">PILJAC, GORAN</p>			
Datum van het verzoek voor een onderzoek van internationaal type <p align="center">11 augustus 1992</p>		Door de Instantie voor Internationaal Onderzoek (ISA) aan het verzoek voor een onderzoek van internationaal type toegekend nr. <p align="center">SN 20424 BE</p>	
I. CLASSIFICATIE VAN HET ONDERWERP (bij toepassing van verschillende classificaties, alle classificatiesymbolen opgeven)			
Volgens de internationale octrooi classificatie (CIB) of terzelfdertijd volgens de nationale classificatie en de CIB <div style="display: flex; justify-content: space-between; align-items: flex-start;"> <div style="width: 30%;">Int.Cl.⁵</div> <div>C 07 H 15/04, B 01 F 17/00, C 11 D 1/06, E 21 B 43/25</div> </div>			
II. ONDERZOCHE GEBIEDEN VAN DE TECHNIEK			
Onderzochte minimum documentatie			
Classificatiesysteem	Classificatiesymbolen		
Int.Cl. ⁵	C 07 H, B 01 F, C 11 D, E 21 B		
Onderzochte andere documentatie dan de minimum documentatie voor zover dergelijke documenten in de onderzochte gebieden zijn opgenomen			
III. <input type="checkbox"/> MEN IS VAN OORDEEL DAT BEPAALDE CONCLUSIES NIET HET ONDERWERP KONDEN UITMAKEN VAN EEN ONDERZOEK (Opmmerkingen op aanvullingsblad)			
IV. <input type="checkbox"/> GEBREK AAN EENHEID VAN UITVINDING EN/OF VASTSTELLING BETREFFENDE DE OMVANG VAN HET ONDERZOEK (Opmmerkingen op aanvullingsblad)			

V. VAN BELANG ZIJNDE LITERATUUR		
° Categorie	Vermelding van literatuur met aanduiding, voor zover nodig, van speciaal van belang zijnde tekstgedeelten of tekeningen.	Van belang voor conclusie(s) Nr.
X	EP,A,0 153 634 (WINTERSHALL AG) 4 September 1985 zie bladzijde 7, regel 5 - regel 10 zie bladzijde 9, regel 25 - bladzijde 10, regel 6 zie bladzijde 12, regel 31 - bladzijde 13, regel 10; conclusie 9 ---	1-11
X	EP,A,0 310 005 (WINTERSHALL AG) 5 April 1989 zie conclusies 1-3,6 ---	1-11
X	EP,A,0 135 099 (PETROTEC SYSTEMS AG) 27 Maart 1985 zie bladzijde 13, regel 6 - bladzijde 14, regel 16; conclusie 1 ---	1
X	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 014, no. 090 (C-0691)20 Februari 1990 & JP,A,13 04 034 (AGENCY OF IND. SCIENCE AND TECHNOL) 7 December 1989 zie samenvatting -----	1
<p>° Categorie van de vermelde literatuur</p> <p>A : achtergrond van de stand van de techniek</p> <p>E : eerdere octrooiaanvraag</p> <p>L : om andere redenen vermelde literatuur</p> <p>O : verwijzend naar niet op schrift gestelde stand van de techniek</p> <p>P : literatuur gepubliceerd tussen voorrangs en indieningsdatum</p> <p>T : niet tijdig gepubliceerde literatuur over theorie of principe ten grondslag liggend aan de uitvinding</p> <p>X : op zichzelf van bijzonder belang</p> <p>Y : van bijzonder belang in samenhang met andere literatuur</p> <p>& : lid van dezelfde octrooifamilie</p>		
VI. VERKLARING		
Datum waarop het onderzoek van internationaal type werd voltooid		Verzenddatum van het rapport van het onderzoek van internationaal type
19 JANUARI 1993		
EUROPEES OCTROOIBUREAU		Ondertekening door de bevoegde ambtenaar
		BRENNAN J.

**AANHANGSEL BEHORENDE BIJ HET RAPPORT BETREFFENDE
NIEUWHEIDSONDERZOEK VAN INTERNATIONAL TYPE,
UITGEVOERD IN OCTROOIAANVRAGE NR.**

BE 9200478
SN 20424

Het aanhangsel bevat een opgave van elders gepubliceerde octrooiaanvragen of octrooien (zogenaamde leden van dezelfde octrooifamilie), die overeenkomen met octrooischriften genoemd in het rapport.
De opgave is samengesteld aan de hand van gegevens uit het computerbestand van het Europees Octrooibureau per 19/01/93
De juistheid en volledigheid van deze opgave wordt noch door het Europees Octrooibureau, noch door de Octrooiraad gegarandeerd, de gegevens worden verstrekt voor informatiedoeleinden.

In het rapport genoemd octrooigeschrift	Datum van publicatie	Overeenkomend(e) geschrift(en)	Datum van publicatie
EP-A-0153634	04-09-85	DE-A- 3405664	05-09-85
		CA-A- 1247030	20-12-88
		JP-A- 60188092	25-09-85
		US-A- 4814272	21-03-89
EP-A-0310005	05-04-89	DE-A- 3733341	13-04-89
		US-A- 5128262	07-07-92
EP-A-0135099	27-03-85	CA-A- 1223534	30-06-87
		US-A- 4628030	09-12-86